



WYDZIAŁ CHEMII
UNIwersytet GDAŃSKI

prof. dr hab. Adam Lesner
Kierownik Pracowni Analityki i Nanodiagnostyki Biochemicznej
Katedra Technologii Środowiska

ul. Wita Stwosza 63, 80-308 Gdańsk
tel. +48-58-523 5095
fax +48-58-523 5012
e-mail: adam.lesner@ug.edu.pl

Recenzja pracy doktorskiej mgr inż. Moniki Gensickiej-Kowalewskiej zatytułowanej
„Synteza i ocena biologiczna oligopeptydowych analogów akrydyny/akrydonu jako
potencjalnych leków przeciwnowotworowych”

Tematem recenzowanej rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Moniki Gensickiej-Kowalewskiej wykonanej pod opieką prof. dr hab. inż. Krystyny Dzierzbickiej jest synteza konjugatów peptydów i pochodnych akrydyny lub akrydonu, a następnie ocena ich aktywności terapeutycznej wykorzystując wybrane nowotworowe modele komórkowe. Choroby nowotworowe stanowią drugą przyczynę zgonów na świecie przy znacznej tendencji wzrostowej. Wśród przyczyn takiego stanu wymienia się między innymi postępującą degradację środowiska naturalnego, niewłaściwy tryb życia człowieka czy wreszcie obciążenia genetyczne. Wśród wielu terapii przeciwnowotworowych, które znajdują zastosowanie w walce z nowotworami wymienić można chirurgiczne usuwanie guza, techniki radiacyjne, biologiczne (immunoterapia i leczenie hormonalne), czy szeroko rozumiane stosowanie środków chemicznych (chemioterapia). Wybór i kombinacja wyżej wymienionych metod jest wypadkową wielu czynników takich jak: typ i rodzaj nowotworu stopień jego zaawansowania itp., lecz bez wątplenia klasyczna chemioterapia z wykorzystaniem antybiotyków przeciwnowotworowych czy cytostatyków jest metodą powszechnie stosowaną i relatywnie skuteczną. Jej efektywność jest obniżona ze względu na słabe penetracje chemoterapeutyku do komórek nowotworu.

W ten obszar badań wpisuje się przedstawiona mi do recenzji praca Pani Moniki Gensickiej-Kowalewskiej. Badania opisane w rozprawie stanowią kontynuację długoletniego nurtu badań nad grupą pochodnych akrydyny i akrydonu których początek datuje się na lata 60 ubiegłego wieku. W tym czasie grupy badawcze profesorów Ledóchowskich, a później Borowskiego i Konopy przyczyniły się do znacznego postępu w projektowaniu i otrzymywaniu tej klasy związków, a zwieńczeniem prowadzonych przez zespoły prac jest otrzymanie

DZIEKANAT WYDZIAŁU CHEMICZNEGO P.G.

wpłynęło dnia 06.06.2018

l. dz. 1195



Pródziekan ds. Nauki

prof. dr hab. inż. Agata Kot-Wasik,
prof. zw. PG

WYDZIAŁ CHEMICZNY

(2)

farmaceutyków które znalazły swoje zastosowanie w terapii przeciwnowotworowej. Tematykę tą z powodzeniem prowadzi zespół pod kierownictwem prof. dr hab. inż. Krystyny Dzierzbickiej z Katedry Chemii Organicznej Wydziału Chemicznego PG. W ramach prowadzonych prac powstają konjugaty wybranych akrydyn bądź akrydonów z peptydami o interesujących właściwościach biologicznych takich jak między innymi tuftsyna. Ten syntetyzowany w organizmie ludzkim endogenny peptyd wykazuje szerokie spektrum właściwości biologicznych wśród których w kontekście terapii przeciwnowotworowej najbardziej interesujące wydają się aktywacja wybranych komórek układu immunologicznego (makrofagów i komórek dendrycznych) oraz pełnienie przez ten związek funkcji protekcyjnej wobec komórek poprzez redukcję stężenia reaktywnych form tlenu.

Ocena formalna pracy

Praca liczy 151 stron i zawiera siedem głównych rozdziałów oraz załączniki przedstawione na stronach 139-151. Układ pracy jest klasyczny i typowy dla prac z dziedziny nauk chemicznych. Wprowadzenie zatytułowane „Część literaturowa” stanowi krótki i zwarty tekst dotyczący metod syntetycznych otrzymywania akrydyn i akrydonów oraz ich właściwości biologicznych. Drugi peptydowy element pracy jakim jest tuftsyna został opisany na czterech stronach i moim zdaniem został potraktowany zbyt skrótowo. Z przyjemnością odnotowuje, że w pracy dominująca część stanowi prezentacja wyników własnych (rozdział 3 str 52-79) oraz opis badań eksperymentalnych (rozdział 4 str 79-123). Krótkie podsumowanie i wnioski oraz prezentacja dorobku naukowego Doktorantki dopełniają niniejszą rozprawę. Spis literatury obejmuje 112 pozycji w większości z ostatnich 5 lat co wskazuje, że Doktorantka posiada umiejętność selekcji ważniejszych doniesień naukowych, co w dzisiejszych czasach, wobec natłoku informacji, jest warte godne naśladowania.

Praca napisana została właściwym naukowym językiem a błędy stylistyczne i językowe należą do rzadkości. Z obowiązku recenzenta przytaczam wybrane:

W wykazie skrótów i symboli znajdują się powszechnie stosowane symbole trójliterowe wybranych aminokwasów białkowych, a także dla kilku z nich Autorka podaje skróty jednoliterowe. Uważam to za niepotrzebne.

Str 16 „Leczenie nowotworów bardzo często opiera się na...” proponuje zamiast opiera wykorzystuje, stosuje.

Str 16 „...materiały do wizualizacji cząsteczek biologicznych...” Niejasne sformułowanie. Recenzent może się jedynie domyślać, że ta część zdania dotyczy wykorzystania właściwości akrydyn jako fluoroforów.

Str 19 „...aerobowe utlenianie... Czy utlenianie może być anaerobowe???”

Str 28 oraz 48 „...właściwości inhibitoryjne w stosunku do...” Proponuję zahamowanie aktywności

Str 32 Rys 4 związku 78a-c zapis (-)_n jest co najmniej niekonwencjonalny proponowałbym w to miejsce (CH₂)_n

Str 40 „...silniejsza aktywność ...” powinno być większa aktywność

Str 45 co oznacza pojęcie „wolnego peptydu”? Jak się domyślam Autorka miała na myśli peptyd z wolną grupą karboksylową na C-końcu

Str 46 jakie właściwości posiada cytuję „inhibitor makrofagów”?

Ponadto w schemacie 24 wzór ogólny związków podstawnik R'=H-Fmoc jest niepoprawny i prowadzi do powstania błędnego wzoru strukturalnego. Podobnie niepoprawny w mojej opinii jest zapis pojawiający na stronie 65 schemat 23 (notabene drugi schemat o tym samym numerze znajduje się na stronie 62). Prosiłbym o wyjaśnienie jak rozumieć należy zapis H-Fmoc, Gly-Fmoc itd. I podanie poprawnej notacji takich pochodnych.

Ocena merytoryczna

Poziom merytoryczny przedstawionej do recenzji pracy jest bardzo wysoki. Celem jaki postawiła sobie Doktorantka (jasno i poprawnie zdefiniowany na stronach 49-50) była synteza pochodnych akrydyny i akrydonu (związki 125a, 125b oraz 130) oraz pochodnych tuftsyny i jej analogu retro (seria związków 143a-d, 153a-d, 154 i 155). W tym miejscu chciałbym zapytać z jakiego powodu nie zaprojektowano i nie otrzymano analogu *retro-inverso* tuftsyny, który byłby idealnym dopełnieniem prowadzonych przez Doktorantkę prac. W kolejnym etapie Doktorantka otrzymała konjugaty poszczególnych związków z grupy akrydyn i akrydonu z peptydami. Takich związków otrzymała 22 nie licząc produktów pośrednich w liczbie przekraczającą 70. Zsyntetyzowane związki, po ich bardzo dokładnym scharakteryzowaniu i potwierdzeniu jednorodności i budowy poddała szczegółowym badaniom biologicznym.

Ocena części syntetycznej nie może być inna niż wysoka. Warsztat chemika eksperymentatora został opanowany przez Autorkę rozprawy w stopniu wysokim. Wykorzystanie syntezy

peptydów oraz ich konjugatów w roztworze dodatkowo podwyższa pozytywny odbiór całej rozprawy.

W ramach oceny aktywności biologicznej Doktorantka wyznaczyła stopień cytotoksyczności otrzymanych związków wobec szeregu linii komórkowych (dwóch typów czerniaka i dwóch neuroblastomy oraz linii Jurkat i limfocytów obwodowych (PBMC)). Większość badań komórkowych Doktorantka przeprowadziła osobiście, a zważywszy na jej umiejętności syntezy peptydów i związków organicznych powoduje, że praca ta należy do wyróżniających. Otrzymane przez nią wyniki są na tyle interesujące, że już zostały opublikowane w dobrych czasopismach z listy JCR. Fakt ten zasługuje na podkreślenie, a biorąc pod uwagę pozytywny recenzje poszczególnych publikacji, jednocześnie zwalnia mnie z oceny tej części prowadzonych przez Doktorantkę badań. Jednak nie sposób zauważyć, że fragment dotyczący prowadzonych badań biologicznych w tym komórkowych jest napisany lakonicznie i bardzo bym prosił, aby podczas obrony zostały podane szczegółowy opis procedur oceny aktywności kaspaz, eksternalizacji fosfatydyloseryny (punkt 3.2.2.1 jest tytuł zawiera błąd) oraz oceny fazy podziału komórki (3.2.2.3). Brak opisu tych procedur powoduje mój znaczący niedosyt. Mimo wskazanych usterek, które z obowiązku recenzenta zmuszony byłem wskazać, muszę podkreślić, że w ramach rozprawy poruszono istotne zagadnienia naukowe znajdujące się w głównym nurcie chemii peptydów i peptydomimetyków (synteza konjugatów peptydowych). Ponadto interdyscyplinarność prowadzonych badań łączących chemię organiczną z biologią komórki jest godny naśladowania. Chciałbym dodać, że na ostatnim Europejskim Sympozjum Peptydowym które odbyło się we wrześniu br. ponad 80% wystąpień ustnych dotyczyło właśnie konjugatów peptydów z niskocząsteczkowymi terapeutykami. Biorąc pod uwagę, iż wyniki rozprawy doktorskiej zostały opublikowane w pięciu pracach z listy JCR stanowi powód do jej wyróżnienia o co formalnie proszę Wysoką Radę. Jednocześnie rodzi się pytanie, dlaczego rozprawa powstała jako doktorat klasyczny a nie tzw. zszywka, czyli zbiór publikacji o wspólnej tematyce?

Podsumowując, chciałbym z całym przekonaniem stwierdzić, że przedłożona do oceny praca Pani mgr inż. Moniki Gensickiej-Kowalewskiej spełnia wymogi ustawowe, stawiane przed rozprawami doktorskimi i wnoszę do Rady Wydziału Chemicznego Politechniki Gdańskiej o dopuszczenie jej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Gdańsk 30.11.2018

